

抗菌肽偶联纳米银材料及其在医疗和食品领域的应用

Antimicrobial peptide-coupled silver nanomaterials and their applications in medical and food fields

谢闰生^{1,2} 李培骏^{1,2,3} 蒋羽秋^{1,2}

XIE Runsheng^{1,2} LI Peijun^{1,2,3} JIANG Yuqiu^{1,2}

曹兴业^{1,2} 李海云¹ 苏东林⁴

CAO Xingye^{1,2} LI Haiyun¹ SU Donglin⁴

(1. 桂林理工大学化学与生物工程学院, 广西 桂林 541004; 2. 韶关学院广东省粤北食药资源利用与保护重点实验室, 广东 韶关 512005; 3. 韶关学院食品学院, 广东 韶关 512005;

4. 湖南省农产品加工研究所, 湖南 长沙 410125)

(1. College of Chemistry & Bioengineering, Guilin University of Technology, Guilin, Guangxi 541004, China; 2. Provincial Key Laboratory for Utilization and Conservation of Food and Medicinal Resources in Northern Guangdong, Shaoguan University, Shaoguan, Guangdong 512005, China; 3. College of Food Science & Technology, Shaoguan University, Shaoguan, Guangdong 512005, China; 4. Hunan Agricultural Product Processing Institute, Changsha, Hunan 410125, China)

摘要: 由于具有抗菌活性, 纳米粒子 (NPs) 和抗菌肽 (AMPs) 相结合可以用来杀死耐药 (MDR) 病原体。纳米银 (AgNPs) 具有广谱高效的抗菌性能、多种细菌灭活机制, 并能对抗菌肽共轭银纳米粒子 (AMP-AgNPs) 表面进行共轭微调, 使得 AMP-AgNPs 具有更高的生物安全性。文章综述了 AMP-AgNPs 偶联物的最新研究进展, 讨论了 AMP-AgNPs 偶联物的合成方式、抗菌活性、作用机制、溶血毒性以及其在医疗和食品领域的应用, 并对其未来发展方向进行了展望。

关键词: 细菌感染; 抗菌肽; 偶联物; 生物安全性; 医疗; 食品

Abstract: Due to antimicrobial activity, nanoparticles (NPs) in combination with antimicrobial peptides (AMPs) can be used to kill drug-resistant (MDR) pathogens. Nanosilver (AgNPs) has broad-spectrum and efficient antimicrobial properties, multiple

bacterial inactivation mechanisms, and the ability to fine-tune the conjugation on the surface of antimicrobial peptide-conjugated silver nanoparticles (AMP-AgNPs), which results in higher biosafety of AMP-AgNPs. The review summarized the latest research progress of AMP-AgNPs conjugates and discussed the synthesis method, antibacterial activity, mechanism of action, hemolytic toxicity of AMP-AgNPs conjugates, as well as their applications in medical and food fields. The future development direction of AMP-AgNPs conjugates was also prospected.

Keywords: bacterial infection; antimicrobial peptides; coupling; biosafety; medical; food

基金项目: 国家重点研发计划项目 (编号: 2022YFD2100804); 韶关市支持科研工作者项目 (编号: 230324098034896); 韶关学院人才引进项目 (编号: 142-9900064701)

作者简介: 谢闰生, 男, 桂林理工大学在读硕士研究生。

通信作者: 李培骏 (1978—), 男, 韶关学院副教授, 博士。

E-mail: peijunli@sgu.edu.cn

苏东林 (1979—), 男, 湖南省农产品加工研究所研究员, 博士。E-mail: sdl791228@163.com

收稿日期: 2024-02-27 **改回日期:** 2024-04-24

细菌感染引起的疾病对人类健康构成了严重威胁, 而抗生素可以有效抑制细菌生长。但是, 随着抗生素的滥用以及人类对其的过度依赖, 致使部分细菌在进化过程中对抗生素产生了耐药性^[1]。世界卫生组织预言 21 世纪可能会迎来后抗生素时代的开始, 预计到 2050 年, 因抗生素耐药性引起感染的死亡人数将上升至数百万^[2]。新型药物的开发速度非常缓慢, 但抗药性却在迅速增加, 耐药细菌通常以生物膜的形式存在, 受到细胞外聚合物基质的保护, 因而不受传统抗生素的影响。

纳米粒子 (NPs) 为对抗耐药 (MDR) 病原体提供了另

一种潜在的解决方案。NPs 本身(例如金、银以及其他金属氧化物等)具有抗菌活性,被证实是一类有效的抗菌剂^[3]。在众多的金属纳米粒子(MNPs)中,纳米银(AgNPs)最受关注,已被广泛应用至多种领域^[4]。银主要以离子、块状金属等形式作为抗菌剂使用,纳米级别的银由于具有高表面积体积比因而对细菌、真菌以及病毒具有高效的抑制作用,且与其他 MNPs 相比,AgNPs 的抗菌机制更为复杂,例如破坏细菌细胞膜,引起细胞穿透,与细胞内靶点反应和引起毒性等^[5-6]。一些 MNPs 虽然也具有高抗菌活性,例如铜纳米粒子(CuNPs),但这也更不稳定,极易被氧化为 CuONPs,从而降低抑菌性能^[7]。同时,与 AgNPs 相比,金纳米粒子(AuNPs)是一种相对惰性的化合物,未表现出明显的内在抗菌活性,其抑菌机制只涉及通过静电作用对细菌表面的黏附,因而往往需要极高的药物浓度才能达到与 AgNPs 相同的抗菌效果^[8]。然而 MDR 病原体的迅速增加,导致了 AgNPs 本身的抗菌能力已无法满足需求。因此,加强和保护 AgNPs 的抗菌能力具有重要意义。近年来,人们提出了基于 AgNPs 创建协同复合材料的方法来解决这些问题。这些复杂的材料一部分由无机 AgNPs 组成,另一部分由具有显著杀菌效果的活性有机分子组成,两者往往具有协同抗菌效果。

许多有机分子已成功地与 AgNPs 结合,比较有代表性的为抗菌肽(AMPs),其是由从微生物到哺乳动物的所有类型生物体免疫系统产生的,以保护自身免受病原体侵害的一类丰富的天然成分^[9],具有广谱抑菌效果,对细菌、真菌以及 MDR 病原体等均有抑制作用^[10]。AMPs 是制造治疗药物的基础,是当前治疗策略的可行替代方案,也是绕过病原体耐药机制的最有前途和最安全的工具之一^[11]。根据其生物合成来源,AMPs 可分为非核糖体肽和核糖体肽两类。非核糖体合成的多肽包含至少两个从氨基酸中获得的部分,主要由细菌产生并显著修饰。核糖体合成的多肽是由原核生物和真核生物共同产生,根据其二级结构分为 4 组(图 1):第 1 组由 α -螺旋肽组成,如磁蛋白;第 2 组包括包含 2~4 个二硫桥的阳离子肽,形成 β -sheet 结构,如 β -防御素、扩张蛋白;第 3 组为扩展的 AMPs,含有阳离子肽,其中富含脯氨酸、色氨酸、精氨酸或组氨酸;第 4 组循环肽是最小的 AMPs 组,通过至少一个二硫桥相互连接,如十二肽和快速肽蛋白,从而形成环状结构。

由于自身所具备的抗菌性能,AMPs 与 AgNPs 的结合可能是对抗细菌感染的另一种解决方案,不仅有助于提高抗菌效果,也有助于克服两种组分的固有缺陷。例如 AgNPs 是优秀的靶向特异性药物传递系统,可有效解决 AMPs 通过生物屏障渗透性差的问题^[13]。另一方面,对于 AgNPs 潜在毒性的担忧仍然存在,体内缺乏有效的

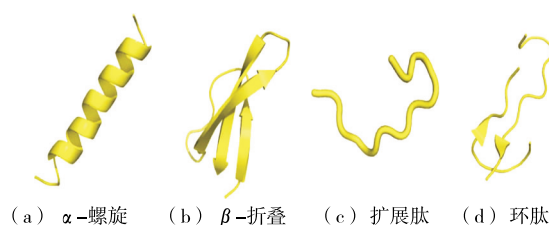


图 1 AMPs 的结构分类^[12]

Figure 1 Structural classification of the AMPs

清除能力是导致 AgNPs 毒性的主要因素之一,与 AMPs 的结合,微调 AgNPs 尺寸形状、表面涂覆等有助于解决当前问题,从而具有更高的生物安全性^[14-15]。文章拟综述抗菌肽偶联银纳米颗粒(AMP-AgNPs)及其应用研究进展,讨论偶联物的结合方式、抗菌机理和溶血毒性,并对其在医疗和食品领域的应用前景进行举例与展望,旨在为构建新型高效抗菌材料提供思路。

1 AMP-AgNPs 偶联物的合成

AMP-AgNPs 偶联物合成通常采用非共价或共价策略^[16]。非共价策略是一种物理吸附过程,AMPs 通过静电相互作用、氢键等方式附着在 AgNPs 表面。Arakha 等^[17]将乳酸菌链球菌素(Nisin)组装到 AgNPs 表面得到 Nisin-AgNPs 偶联物,并分析了二者的结合机制。Zeta 电位表明,完整的 AgNPs 表面电位为 (-52.0 ± 7.4) mV,而 Nisin-AgNPs 偶联物中随着 Nisin 比例的增加,表面电位被中和,最终降至 (-15.4 ± 3.14) mV。类似的,Alves 等^[18]报道了表面电位中和是阳离子和阴离子静电相互作用的结果。因此,Nisin 作为一种表面正电荷阳离子肽,通过静电相互作用与 AgNPs 结合形成了稳定非共价表面偶联物。共价策略涉及到化学吸附过程,可以通过将 AMPs 直接化学吸附到 AgNPs 表面或利用双功能连接剂来实现。例如,含硫醇肽可以直接结合到 AgNPs 表面^[19]。Bajaj 等^[20]报道了利用双官能团化合物 2-巯基丙酸(MPA)将短阳离子二肽与 AgNPs 结合的案例。MPA 同时具有巯基(SH)基团和羧基(COOH)基团,SH 基团与 AgNPs 金属表面结合,使 COOH 基团能够进行进一步的功能化,后采用 EDC/NHS 偶联化学方法合成 AMP-AgNPs 偶联物。最初,EDC 通过形成乙酰异脲中间体来激活 AgNPs 表面的 COOH,该中间体进一步被试剂 NHS 取代,最终与肽偶联形成酰胺键得到偶联产物。尽管共价和非共价策略均可用于 AgNPs 的生物功能化,但对于阳离子 AMPs,共价偶联在偶联物的质量和稳定性方面更可靠。

Ruden 等^[21]证明了 AMPs 固定化 AgNPs 可以增加抗菌活性,即多黏菌素 B 和 AgNPs 之间的协同作用,polymyxin B-AgNPs 偶联物能有效抑制革兰氏阴性菌,且在高浓度下显示低溶血活性。Sidhu 等^[22]从乳酸菌菌

株中提取纯化了抗菌肽 Bac4463 和 Bac22,并对其封装的 AgNPs 进行了生物合成,与单独使用 AgNPs 或抗菌肽相比,Bac4463-AgNPs、Bac22-AgNPs 对不同食源性病原体体外抗菌效果均有所增强。Darwish 等^[23]利用超短抗菌肽 Tryasine 与 AgNPs 偶联,并检测了偶联物对于耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)、产超广谱 β -内酰胺酶大肠杆菌(ESBL *E. coli*)两种 MDR 病原体的抑制效果。结果表明,相较于 Tryasine 以及 AgNPs 的单独使用, Tryasine-AgNPs 偶联物对于 MRSA、ESBL *E. coli* 的抑制效果分别提升了 2.6,2.8 倍。表 1 为一些 AMPs 偶联 AgNPs 的制备及其偶联物可能的抑菌机制。

相较于 AMPs 或 AgNPs 单独使用,AMP-AgNPs 偶联物对于多种细菌、MDR 病原体都有更好的抑制效果且稳定性优良,二者的结合是一种较有前途的方法以应对细菌感染。然而,对于不同的 AMPs 与 AgNPs 结合,应

充分了解其理化特性,选择合适的策略构建偶联产物,这对于最终产物的形貌状态以及生物活性影响深远。

2 AMP-AgNPs 偶联物的抗菌活性评价及机理

2.1 抗菌活性评价

作为一种新型抗菌材料,评价 AMP-AgNPs 偶联物是否具有广泛、高效、稳定的抗菌性能必不可少。最小抑菌浓度(MIC)^[31]是指一种能够抑制细菌生长、繁殖的最低药物浓度,是测量抗菌药物抗菌活性大小最常见的指标,常用于鉴定抗菌材料对感染细菌的最低效力免疫。微量肉汤稀释法^[32]是 AMP-AgNPs 偶联物中最常用的 MIC 测定方法,即使用肉汤填充的微量滴度孔与一系列加倍稀释的抗菌材料浓度来确定 MIC。此外,琼脂圆盘扩散法^[33]、改良琼脂稀释法^[34]及琼脂孔扩散法^[35]等也

表 1 AMP-AgNPs 偶联物制备及其抑菌

Table 1 Preparation of AMP-AgNPs conjugates and their bacteriostasis

抗菌肽	作用/合成方式	体外抗菌试验	抑菌机制	文献
乳酸链球菌素	静电作用	供试菌 <i>E. coli</i> , 偶联物细菌死亡率为 80%, 组分无细菌死亡	细菌膜穿孔损伤, 细胞裂解	[17]
阳离子肽 OA1	Ag-S	供试菌 <i>E. coli</i> , 细菌死亡率: 偶联物为 58.7%, AgNPs 为 30.0%	肽与细胞膜结合, 最终导致细胞裂解死亡	[19]
阳离子二肽	MPA EDC NHS	供试菌 <i>E. coli</i> 、 <i>S. aureus</i> , MIC: 偶联物为 16 $\mu\text{g/mL}$, AgNPs 为 32 $\mu\text{g/mL}$	细菌细胞壁被破坏, 导致细胞死亡	[20]
多黏菌素 B	—	供试菌 <i>E. coli</i> , MIC: 偶联物为 8 $\mu\text{g/mL}$, AgNPs 为 64 $\mu\text{g/mL}$	细菌膜通透性改变, 细胞死亡	[21]
肽 Bac4463、 Bac22	静电作用	供试菌 <i>S. flexneri</i> , 偶联物 MIC 为 2 $\mu\text{g/mL}$	细菌膜表面形成孔, 引起膜损伤	[22]
超短抗菌肽 Tryasine	静电作用	供试菌 MRSA, MIC: 偶联物为 90 $\mu\text{g/mL}$, AgNPs 为 230 $\mu\text{g/mL}$	—	[23]
臭蛙提取肽 OA	静电作用	供试菌 <i>S. aureus</i> , 圆盘抑制区直径: 偶联物 > AgNPs	—	[24]
合成肽 P-13	静电作用	供试菌 <i>E. coli</i> 、 <i>S. aureus</i> , MIC: 偶联物为 7.8 $\mu\text{g/mL}$, AgNPs 为 125 $\mu\text{g/mL}$	细胞壁/细胞膜形成孔, 细菌损伤死亡	[25]
泛素 29-41(UBI)	SDS	供试菌 <i>E. coli</i> , MIC: 偶联物为 89.3 $\mu\text{g/mL}$, AgNPs 为 130.6 $\mu\text{g/mL}$	—	[26]
细胞穿透肽	DMF	供试菌 <i>B. subtilis</i> MIC: 偶联物为 0.01 mmol/L, AgNPs 为 0.13 mmol/L	改变细胞壁通透性	[27]
肽 G-Bac3.4	—NH ₂	供试菌 <i>E. coli</i> , 偶联物的抑菌效果为 AgNPs 的 4 倍	细胞膜损伤, 细胞裂解死亡	[28]
ϵ -聚赖氨酸	DMSO C ₄ H ₉ Br	供试菌 <i>P. aeruginosa</i> , 抑制圈直径: 偶联物为 16.6 mm, AgNPs 为 9.1 mm	细胞壁/细胞膜被裂解, 细胞死亡	[29]
黏菌素	SDS	供试菌 <i>E. coli</i> , MIC: 偶联物为 16 $\mu\text{g/mL}$, AgNPs 为 128 $\mu\text{g/mL}$	膜损伤使得纳米银进入细胞, 引起细胞毒性死亡	[30]

常用来评价抗菌材料的抑制效果。评价方法的选择更多还取决于材料性能与供试病原体的生长条件,例如琼脂平板可以供肺炎链球菌和流感嗜血杆菌生长,可以测定不能用于微量肉汤稀释试验的病原体的抗菌活性。

2.2 抗菌机理

AgNPs 已知具有 4 种灭菌机制^[36-38]: ① 附着到微生物膜表面,使细胞膜结构发生不可逆的形态变化,最终导致脂质双层的完整性和细胞膜的通透性的丧失。② 渗透到细胞中,导致生物分子的破坏和细胞内损伤。③ AgNPs 独特的理化性质可在微生物细胞中充当信号转导的调节剂,从而破坏细胞的信号转导途径。④ 活性氧物种(ROS)的产生,导致微生物的细胞氧化应激。值得一提的是,AgNPs 的抗菌潜力通常与产生 ROS 和自由基的能力以及最终增加的细胞氧化应激有关。ROS 的产生也已成为评价 AgNPs 对细菌细胞毒性的最重要指标,因其可能诱导脂质损伤,引起细胞生物分子的泄漏,并最终导致细胞凋亡^[39]。AMPs 最常见和最普遍的作用机制是对细菌膜的扰动或完全裂解,这与 AMPs 的净正电荷和两亲性结构有关^[40]。当 AMPs 与磷脂膜接触时,会形成明确的二级结构,与目标膜结合后,膜通透性发生改变,导致细胞成分的泄漏,并最终导致细胞死亡。为此已提出了多种模型来解释 AMPs 破坏膜的机制,其中环孔模型、桶壁模型以及地毯状模型是科学界最为接受的模型^[41]。AMPs 也可通过内吞作用或直接渗透进入细菌细胞,一旦进入细胞质,AMPs 就会识别目标并采取相应行动,其通常通过抑制蛋白酶活性、核酸的合成和细胞分裂来发挥作用,最终灭活细菌^[42]。

根据附着肽和 AgNPs 的大小、性质,AMP-AgNPs 偶联物遵循多种机制^[43-44]。最常见的机制是由于偶联物附着在细菌表面,引起细菌细胞壁的破裂,导致细胞质泄漏,最终细胞死亡。此外,偶联物的附着致使 AgNPs 可以沉积至细菌细胞膜上,并与膜的蛋白质和脂多糖(LPS)相互作用^[45],最终通过磷脂双分子层扩散或是孔蛋白通道进入细菌细胞。AgNPs 的存在改变了质膜的通透性,并凭借其优秀的靶向特异性药物传递能力帮助 AMPs 到达其靶位点,其中一些 AgNPs 会损害细菌细胞的外排泵,导致进入胞内的 AMPs 无法排出,从而抑制蛋白酶活性、蛋白质合成、核酸合成、细胞分裂、转录和翻译,有效改变细菌细胞的新陈代谢。与此同时,AgNPs 还可作为氧化剂施加氧化压力,ROS 的产生引起细胞的氧化应激,损害各种细胞器,破坏新陈代谢。因此,在多种机制共同作用下细菌细胞死亡(图 2)。

与单独使用这些组分相比,偶联物抗菌活性增加的可能是由于 AgNPs 促进药物在作用部位获得更高的浓度。由于涂覆有 AgNPs 的 AMPs 可以更容易进入细菌细胞,且与内膜有更大的相互作用,因此 AMP-AgNPs 偶

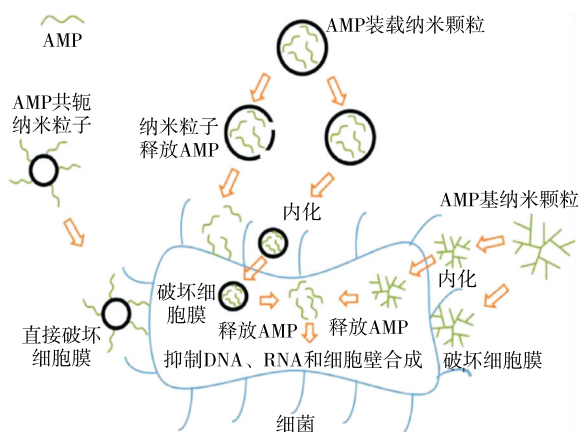


图 2 AMP-AgNPs 偶联物与细菌细胞相互作用诱导抗菌活性的可能机制示意图^[46]

Figure 2 Schematic representation of the possible mechanisms of AMP-AgNPs conjugates interacting with bacterial cells to induce antimicrobial activity

联物在生物学上更有活性,特别是对生物膜,而生物膜在MDR病原体中起着重要的作用。由于靶向抗生素的细胞活性对MDR病原体无效,因此,AMP-AgNPs 偶联物为治疗MDR细菌性疾病提供了替代解决方案^[47-48]。

3 AMP-AgNPs 偶联物的细胞毒性

AgNPs 具有较小的尺寸,赋予了其有效的杀死多种细菌的能力,包括耐药性细菌(MDR)。然而,AgNPs 的抗菌作用往往需要高浓度,因为其抗菌机制是与细菌膜的随机物理碰撞,然后穿透细胞质产生抗菌作用,但高浓度的 AgNPs 会引起毒性。研究^[49]发现,AgNPs 存在时会影响细胞的生化环境,特别是其 $<10\text{ nm}$ 时。AgNPs 被人体或动物吸入和摄入后,可以分布到各种器官,包括肝、心、脾、脑、肺和胃肠道。因此,对哺乳动物细胞的毒性是 AgNPs 临床使用的最大限制因素。Liu 等^[27]通过配体交换得到了一种细胞穿透肽 G3 R6 TAT-AgNPs 偶联物,体外抗菌试验表明,虽然 G3 R6 TAT-AgNPs 的有效直径更小,但其杀菌活性却更高;随后研究了不同银基材料作用下大鼠红细胞的血红蛋白释放,结果表明,与单独使用 AgNPs 相比,G3 R6 TAT-AgNPs 不仅具有更高的杀菌活性,还具有更低的细胞毒性。表 2 为一些 AMP-AgNPs 偶联物的溶血、毒性分析及应用。

对于偶联物降低毒性的机理探究,Gao 等^[25]设计了一种肽-纳米颗粒-核壳结构,独立设计的肽 P-13 在单步反应中在 AgNPs 周围形成了一个保护壳层(图 3),当肽段处于拉伸状态时,壳层厚度可达 4 nm ,覆盖了 AgNPs,使得 AgNPs 的金属表面不能轻易到达供试 NIH-3T3 细胞,从而抑制了银的细胞毒性。

此外,对 AgNPs 的固定也有助于克服 AMPs 的一些

表 2 AMP-AgNPs 偶联物的溶血、毒性分析及其应用

Table 2 Hemolysis, toxicity analysis and their application of AMP-AgNPs conjugates

抗菌肽种类	溶血分析	细胞毒性	应用	文献
肽 Bac4463、Bac22	— —	— —	食品保存和包装材料	[22]
超短抗菌肽 Tryasine	供试细胞人红细胞,溶血;偶联物为 1%,AgNPs 为 100%	供试细胞为哺乳动物细胞,偶联物的细胞毒性显著降低	低溶血抗菌材料	[23]
臭蛙提取肽 OA	供试细胞为红细胞,二者的溶血皆低于 7%	供试细胞为 NIH-3T3,偶联物的细胞活力为 80%,且对癌细胞有抑制力	高抗菌,高生物相容性伤口敷料	[24]
合成肽 P-13	— —	供试细胞为 NIH-3T3,细胞活力:偶联物为 60%,AgNPs 为 20%	新型抗菌药物	[25]
细胞穿透肽 G ₃ R ₆ TAT	供试细胞为大鼠红细胞,溶血;偶联物为 21%,AgNPs 为 54%	— —	治疗细菌感染	[27]
吡啶菌素	供试细胞为人红细胞,高浓度下,二者的溶血皆低于 25%	供试细胞为 Vero 细胞,偶联物的细胞毒性低于裸 AgNPs	高效抗菌剂治疗口腔感染等	[50]
多黏菌素 E、杆菌肽 A	— —	供试细胞为 NIH-3T3,细胞活力:偶联物为 80%,AgNPs 为 65%	高抗菌,高生物相容性伤口敷料	[51]

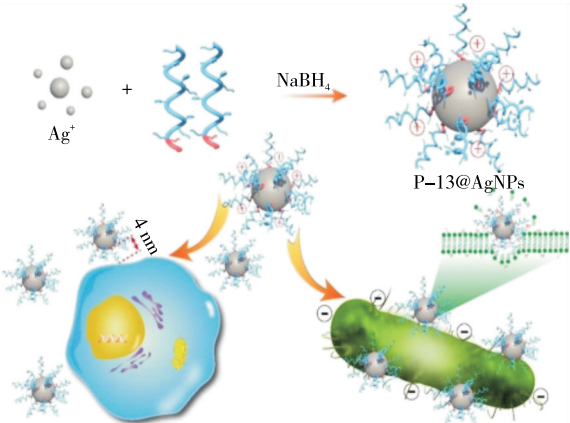


图 3 P-13@AgNPs 降低细胞毒性和增强抗菌活性机制示意图^[25]

Figure 3 Schematic of the mechanisms of reducing cytotoxicity and enhancing antimicrobial activity by P-13@AgNPs

固有缺陷,如通过生物屏障的渗透性差,AgNPs 可以随意改变其大小和形状,以满足给药标准。而 AMP-AgNPs 偶联物可以穿透生物屏障,避免动物免疫识别机制的影响。因此,AMP-AgNPs 偶联物不仅提供了一种对抗细菌感染的替代解决方案,协同增强了抗菌活性,减少了对抗菌材料高剂量的需求,使得单个组分使用时的固有缺陷得到了改善,使抗菌材料对哺乳动物细胞具有更高的安全性,为实现其临床潜力提供了更多可能。

4 AMP-AgNPs 偶联物的应用

4.1 抗微生物感染

AgNPs 是作为 Ag⁺ 的载体到细菌膜和细胞质,而不

是对细菌产生直接的颗粒特异性毒性,这种功能归因于与生物配体的最小结合和相互作用。因此,AgNPs 与 AMPs 的偶联可以增强 AMPs 与细菌膜的相互作用,释放 Ag⁺ 并进一步诱导细菌毒性,协同抗菌。此外,AMPs 可以防止 AgNPs 聚集,增强其稳定性^[52]。AgNPs 也可以增强 AMPs 的稳定性和活性,从而促进抗菌效果。基于 AgNPs 的制剂如 Tryasine-AgNPs^[23]、G3R6TAT-AgNPs^[27]可有效杀死包括耐药细菌 MRSA 等在内的各种微生物。Zannella 等^[50]报道了一种使用吡啶菌素包被的 AgNPs 以对抗口腔细菌感染,评价了其对于可引起口腔炎症的金黄色葡萄球菌、沙眼衣原体的活性。结果表明,偶联物对于两种微生物具有极高的抑制活性,MIC 可达 5 μg/mL,对治疗口腔微生物感染具有积极的效果。此外,AMP-AgNPs 偶联物对治疗眼部感染、肺部感染等均具有良好的效果,为 AMP-AgNPs 偶联物在抗菌领域的应用提供了有力支撑。

4.2 伤口敷料

伤口愈合受损及其医疗并发症是急需解决的医疗需求之一,而促进皮肤再生和对抗细菌感染的银基配方已被开发出来。Chen 等^[24]在大鼠背侧区域形成全层圆形皮肤伤口评价了 AGO-AgNPs-OA 偶联物的创面愈合效果。伤口收缩情况表明,AGO-AgNPs-OA 和 AGO-AgNPs 敷料对伤口愈合均有显著的促进作用,而与其他组相比,偶联物敷料组的伤口愈合速度更快,瘢痕较小,皮肤更光滑。Mei 等^[51]利用多黏菌素 E、杆菌肽 A 合成了偶联物 AgNPs-BA 和 AgNPs-PE,并对同样的处理大鼠皮肤创面进行了组织学评价。通过苏木精和伊红

(H&E)染色的组织学图像分别观察到上皮化、肉芽组织形成、伤口下侧结缔组织收缩,提示伤口愈合,表明偶联物敷料不仅对真皮组织无影响,还促进了伤口愈合。因此,AMP-AgNPs 偶联物可能有助于防止伤口感染,促进伤口愈合,具有抗菌性能和生物相容性,扩大了银基复合材料在伤口愈合方面的应用。

4.3 食品防腐保鲜

AMPs 已被成功应用于食品工业领域,并通过将其纳入食物基质或作为涂层进行了防腐效果测试^[53]。影响 AMPs 活性的因素包括温度、贮藏条件、酶的存在以及与食物基质的相互作用,为了克服这些限制,纳米颗粒被用作有效的传递载体,以保护 AMPs 免受降解效应^[54]。Sidhu 等^[22]利用抗菌肽 Bac4463 和 Bac22 分别包封的 AgNPs 对多种食品腐败微生物进行抗菌活性测定,与单独使用 AgNPs 或 AMPs 相比,Bac4463-AgNPs 和 Bac22-AgNPs 对不同食品腐败微生物的体外抗菌效果均有所增强。Pandit 等^[55]利用植物合成 AgNPs 并与 Nisin 进行了偶联,所制备的银生物偶联物对食品腐败微生物具有体外抗菌活性且高于 AgNPs 和 Nisin 单独使用。此外, Pandit 等^[55]还制备了含银生物偶联物的琼脂膜,对食品腐败微生物同样具有良好的抗菌潜力。因此,AMP-AgNPs 偶联物可作为食品防腐剂增强对食品腐败微生物的抗菌效果,其衍生产品如抗菌膜等具有抗菌活性,可用于食品包装,从而延长食品的保质期。

5 总结与展望

抗菌肽共轭银纳米粒子(AMP-AgNPs)偶联物可作为一种新型材料投入使用,进入到日常生活中,但其仍存在许多问题需要解决,包括:① 体内抗菌研究相对匮乏,大多数研究对于偶联材料仅报道了体外抗菌活性,但是对于偶联物在动物体内的抗菌作用及其对机体的影响研究依旧不足。② 抗菌机制的研究不够深入,AMP-AgNPs 偶联物两种类型抑制机制已被报道,即在细胞水平和分子水平上导致细胞死亡。然而 AgNPs 不仅会在细胞水平和分子水平上损伤细胞,其对细菌的亚细胞结构等也会造成影响,而两者的协同抗菌机制还有待进一步研究。③ 有关 AMP-AgNPs 偶联材料对机体的长效毒性影响依旧不足,需要一个持久、深入、严格、彻底的体外和体内试验,以期完全掌握偶联物材料的毒性作用。④ AMP-AgNPs 偶联物作为一种新型材料可应用至抗菌领域,如食品包装、保鲜、伤口敷料等。但在其他领域的应用与开发相对匮乏,因此,开发 AMP-AgNPs 偶联物在化妆品、催化剂、生物检测等领域的应用具有重要意义。

参考文献

[1] YU Y, SHEN M, SONG Q, et al. Biological activities and

pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 183: 91-101.

[2] WANG Y, YANG Y, SHI Y, et al. Antibiotic-free antibacterial strategies enabled by nanomaterials: Progress and perspectives[J]. Advanced Materials, 2020, 32(18): 1904106.

[3] CARRAPICO A, MARTINS M R, CALDEIRA A T, et al. Biosynthesis of metal and metal oxide nanoparticles using microbial cultures: Mechanisms, antimicrobial activity and applications to cultural heritage[J]. Microorganisms, 2023, 11(2): 378.

[4] 陈巧玲, 陈碧桑, 吴秀婷, 等. 蛋壳粉纳米银抗菌材料的制备及抑菌性研究[J]. 食品与机械, 2018, 34(8): 105-109.

CHEN Q L, CHEN B S, WU X T, et al. Preparation of eggshell-powder nanosilver and its antibacterial properties [J]. Food & Machinery, 2018, 34(8): 105-109.

[5] RAI M K, DESHMUKH S D, INGLE A P, et al. Silver nanoparticles: The powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria[J]. Journal of Applied Microbiology, 2012, 112(5): 841-852.

[6] ROY A, BULUT O, SOME S, et al. Green synthesis of silver nanoparticles: Biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity[J]. RSC Advances, 2019, 9(5): 2 673-2 702.

[7] AKHAVAN O, GHADERI E. Cu and CuO nanoparticles immobilized by silica thin films as antibacterial materials and photocatalysts[J]. Surface and Coatings Technology, 2010, 205(1): 219-223.

[8] ZHANG Y, SHAREENA D T P, DENG H, et al. Antimicrobial activity of gold nanoparticles and ionic gold [J]. Journal of Environmental Science and Health, Part C, 2015, 33(3): 286-327.

[9] HAGEMANN C L, MACEDO A J, TASCA T. Therapeutic potential of antimicrobial peptides against pathogenic protozoa [J]. Parasitology Research, 2024, 123(2): 122.

[10] 张书会, 罗璐, 孙雪言, 等. 虎奶菇菌丝体抗菌肽提取工艺优化及活性研究[J]. 食品与机械, 2022, 38(8): 158-165.

ZHANG S H, LUO L, SUN X Y, et al. Optimization of extraction process and activity study of antimicrobial peptides from Pleurotus tuber-regium mycelium [J]. Food & Machinery, 2022, 38(8): 158-165.

[11] SHANG L, CHEN C, SUN R, et al. Engineered peptides harboring cation motifs against multidrug-resistant bacteria[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2024, 16(5): 5 522-5 535.

[12] NGUYEN L T, HANEY E F, VOGEL H J. The expanding scope of antimicrobial peptide structures and their modes of action [J]. Trends in Biotechnology, 2011, 29(9): 464-472.

[13] PATRULEA V, BORCHARD G, JORDAN O. An update on antimicrobial peptides (AMPs) and their delivery strategies for wound infections[J]. Pharmaceutics, 2020, 12(9): 840.

[14] MOTTA G, GUALTIERI M, SAIBENE M, et al. Preliminary toxicological analysis in a safe-by-design and adverse outcome pathway-driven approach on different silver nanoparticles: Assessment of acute responses in A549 cells[J]. Toxics, 2023, 11

- (2): 195.
- [15] IORI V, MUZZINI V G, VENDITTI I, et al. Phytotoxic impact of bifunctionalized silver nanoparticles (AgNPs-Cit-L-Cys) and silver nitrate (AgNO₃) on chronically exposed callus cultures of *Populus nigra* L[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2023, 30(54): 116 175-116 185.
 - [16] KRISHNA R H, CHANDRAPRABHA M N, MONIKA P, et al. Biomolecule conjugated inorganic nanoparticles for biomedical applications: A review[J]. Biotechnology and Genetic Engineering Reviews, 2022, 24: 1-42.
 - [17] ARAKHA M, BORAH S M, SALEEM M, et al. Interfacial assembly at silver nanoparticle enhances the antibacterial efficacy of nisin[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2016, 101: 434-445.
 - [18] ALVES C S, MELO M N, FRANQUELIM H G, et al. *Escherichia coli* cell surface perturbation and disruption induced by antimicrobial peptides BP100 and pepR[J]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(36): 27 536-27 544.
 - [19] PAL I, BRAHMKHATRI V P, BERA S, et al. Enhanced stability and activity of an antimicrobial peptide in conjugation with silver nanoparticle[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2016, 483: 385-393.
 - [20] BAJAJ M, PANDEY S K, WANGOO N, et al. Peptide functionalized metallic nanoconstructs: Synthesis, structural characterization, and antimicrobial evaluation[J]. ACS Biomaterials Science & Engineering, 2018, 4(2): 739-747.
 - [21] RUDEN S, HILPERT K, BERDITSCH M, et al. Synergistic interaction between silver nanoparticles and membrane-permeabilizing antimicrobial peptides[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2009, 53(8): 3 538-3 540.
 - [22] SIDHU P K, NEHRA K. Bacteriocin-capped silver nanoparticles for enhanced antimicrobial efficacy against food pathogens[J]. IET Nanobiotechnology, 2020, 14(3): 245-252.
 - [23] DARWISH R M, SALAMA A H. Study the effect of conjugate novel ultra-short antimicrobial peptide with silver nanoparticles against methicillin resistant *S. aureus* and ESBL *E. coli* [J]. Antibiotics, 2022, 11(8): 1 024.
 - [24] CHEN X, LI H, QIAO X, et al. Agarose oligosaccharide-silver nanoparticle-antimicrobial peptide-composite for wound dressing [J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 269: 118258.
 - [25] GAO J, NA H, ZHONG R, et al. One step synthesis of antimicrobial peptide protected silver nanoparticles: The core-shell mutual enhancement of antibacterial activity [J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2020, 186: 110704.
 - [26] MORALES-AVILA E, FERRO-FLORES G, OCAMPO-GARCÍA B E, et al. Antibacterial efficacy of gold and silver nanoparticles functionalized with the ubiquicidin (29 ~ 41) antimicrobial peptide[J]. Journal of Nanomaterials, 2017, 2 017: 1-10.
 - [27] LIU L, YANG J, XIE J, et al. The potent antimicrobial properties of cell penetrating peptide-conjugated silver nanoparticles with excellent selectivity for Gram-positive bacteria over erythrocytes [J]. Nanoscale, 2013, 5(9): 3 834-3 840.
 - [28] GOLUBEVA O Y, SHAMOVA O V, ORLOV D S, et al. Synthesis and study of antimicrobial activity of bioconjugates of silver nanoparticles and endogenous antibiotics [J]. Glass Physics and Chemistry, 2011, 37: 78-84.
 - [29] DAI X, GUO Q, ZHAO Y, et al. Functional silver nanoparticle as a benign antimicrobial agent that eradicates antibiotic-resistant bacteria and promotes wound healing[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2016, 8(39): 25 798-25 807.
 - [30] MUENRAVA P, SAWATDEE S, SRICHANA T, et al. Silver nanoparticles conjugated with colistin enhanced the antimicrobial activity against gram-negative bacteria [J]. Molecules, 2022, 27(18): 5 780.
 - [31] 冯静, 汤善文, 周雪, 等. 谷胱甘肽辅助合成银纳米粒子及其抗菌活性研究[J]. 化工新型材料, 2023, 51(S2): 449-454.
 - FENG J, TANG S W, ZHOU X, et al. The study of glutathione-assisted synthesis of Silver nanoparticles and their antibacterial activities[J]. New Chemical Materials, 2023, 51(S2): 449-454.
 - [32] 张亚茹, 凌丽燕, 陈敏. EUCAST 和 CLSI 微量肉汤稀释法白念珠菌体外药物敏感性试验结果比较 [J]. 检验医学, 2022, 37(10): 974-978.
 - ZHANG Y R, LING L Y, CHEN M. Comparison of EUCAST and CLSI broth microdilution methods for the susceptibility testing against *Candida albicans* [J]. Laboratory Medicine, 2022, 37(10): 974-978.
 - [33] SALAM M A, AL-AMIN M Y, PAWAR J S, et al. Conventional methods and future trends in antimicrobial susceptibility testing[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2023, 30(3): 103582.
 - [34] SOLEYMANI M, KABIRIFARD H, HEKMATI M, et al. In situ bio-inspired fabrication of Ag nanoparticles on *Matricaria chamomilla* extract modified Cu-Al-Zn LDH as a beneficial antimicrobial agent [J]. Inorganic Chemistry Communications, 2024, 160: 111998.
 - [35] KHAN S, FIAZ M, YASMIN H, et al. Molecular profiling, characterization and antimicrobial efficacy of silver nanoparticles synthesized from *calvatia gigantea* and *mycena leaiana* against multidrug-resistant pathogens[J]. Molecules, 2023, 28(17): 6 291.
 - [36] ABDALLA S S I, KATAS H, CHAN J Y, et al. Antimicrobial activity of multifaceted lactoferrin or graphene oxide functionalized silver nanocomposites biosynthesized using mushroom waste and chitosan [J]. RSC Advances, 2020, 10(9): 4 969-4 983.
 - [37] PRAMANIK S, CHATTERJEE S, SAHA A, et al. Unraveling the interaction of silver nanoparticles with mammalian and bacterial DNA[J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2016, 120(24): 5 313-5 324.
 - [38] DAKAL T C, KUMAR A, MAJUMDAR R S, et al. Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles[J]. Frontiers

- in Microbiology, 2016, 7: 1 831.
- [39] QING Y, CHENG L, LI R, et al. Potential antibacterial mechanism of silver nanoparticles and the optimization of orthopedic implants by advanced modification technologies[J]. International Journal of Nanomedicine, 2018, 13: 3 311-3 327.
- [40] KUMAR P, KIZHAKKEDATHU J N, STRAUS S K. Antimicrobial peptides: Diversity, mechanism of action and strategies to improve the activity and biocompatibility in vivo[J]. Biomolecules, 2018, 8 (1): 4.
- [41] 肖怀秋, 李玉珍, 林亲录, 等. 抗菌肽多靶点作用抑菌机理研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2022, 41(5): 11-19.
- XIAO H Q, LI Y Z, LIN Q L, et al. Advances in multiple targets mechanism of antimicrobial peptides[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2022, 41(5): 11-19.
- [42] MARDIROSSIAN M, GRZELA R, GIGLIONE C, et al. The host antimicrobial peptide Bac71-35 binds to bacterial ribosomal proteins and inhibits protein synthesis[J]. Chemistry & Biology, 2014, 21(12): 1 639-1 647.
- [43] FENG Z V, GUNSOLUS I L, QIU T A, et al. Impacts of gold nanoparticle charge and ligand type on surface binding and toxicity to Gram-negative and Gram-positive bacteria[J]. Chemical Science, 2015, 6(9): 5 186-5 196.
- [44] LI X, ROBINSON S M, GUPTA A, et al. Functional gold nanoparticles as potent antimicrobial agents against multi-drug-resistant bacteria[J]. ACS Nano, 2014, 8(10): 10 682-10 686.
- [45] FRANCO-ULLOA S, GUARNIERI D, RICCARDI L, et al. Association mechanism of peptide-coated metal nanoparticles with model membranes: A coarse-grained study[J]. Journal of Chemical Theory and Computation, 2021, 17(7): 4 512-4 523.
- [46] THAPA R K, DIEP D B, TØNNESEN H H. Nanomedicine-based antimicrobial peptide delivery for bacterial infections: Recent advances and future prospects [J]. Journal of Pharmaceutical Investigation, 2021, 51: 377-398.
- [47] QAYYUM S, KHAN A U. Nanoparticles vs. biofilms: A battle against another paradigm of antibiotic resistance[J]. Med Chem Comm, 2016, 7(8): 1 479-1 498.
- [48] HUH A J, KWON Y J. "Nanoantibiotics": A new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era[J]. Journal of Controlled Release, 2011, 156(2): 128-145.
- [49] YANG L, WATTS D J. Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles [J]. Toxicology Letters, 2005, 158(2): 122-132.
- [50] ZANNELLA C, SHINDE S, VITIELLO M, et al. Antibacterial activity of indolicidin-coated silver nanoparticles in oral disease[J]. Applied Sciences, 2020, 10(5): 1 837.
- [51] MEI L, LU Z, ZHANG W, et al. Bioconjugated nanoparticles for attachment and penetration into pathogenic bacteria [J]. Biomaterials, 2013, 34(38): 10 328-10 337.
- [52] PAL I, BHATTACHARYA D, KAR R K, et al. A peptide-nanoparticle system with improved efficacy against multidrug resistant bacteria[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 4 485.
- [53] 杨悦, 李燕, 王小方, 等. 抗菌肽及其在食物储藏与保鲜中的应用[J]. 食品与生物技术学报, 2021, 40(4): 9-16.
- YANG Y, LI Y, WANG X F, et al. Antimicrobial peptides and their applications in food storage and preservation[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2021, 40(4): 9-16.
- [54] LOPES N A, BRANDELLI A. Nanostructures for delivery of natural antimicrobials in food [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2018, 58(13): 2 202-2 212.
- [55] PANDIT R, RAI M, SANTOS C A. Enhanced antimicrobial activity of the food-protecting nisin peptide by bioconjugation with silver nanoparticles [J]. Environmental Chemistry Letters, 2017, 15: 443-452.
-
- (上接第 112 页)
- [15] 王立扬, 张瑜, 沈群, 等. 基于改进型 LeNet-5 的苹果自动分级方法[J]. 中国农机化学报, 2020, 41(7): 105-110.
- WANG L Y, ZHANG Y, SHEN Q, et al. Automatic apple classification method based on improved LeNet-5 [J]. Chinese Journal of Agricultural Mechanochemistry, 2020, 41(7): 105-110.
- [16] 范传会, 黄文俊, 钟彩虹, 等. 猕猴桃品种对猕猴桃脆片品质影响的评价[J]. 食品与机械, 2022, 38(12): 21-27.
- FAN C H, HUANG W J, ZHONG C H, et al. Evaluation of the impact of kiwifruit varieties on the quality of kiwifruit chips[J]. Food & Machinery, 2022, 38 (12): 21-27.
- [17] 索婷, 杨书林, 林娜, 等. 小麦粉特性与生湿面品质的关系研究[J]. 食品与生物技术学报, 2024, 43(3): 54-65.
- SUO T, YANG S L, LIN N, et al. A study on the relationship between wheat flour characteristics and wet noodle quality [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2024, 43(3): 54-65.
- [18] 田淮锐, 田建艳, 王素钢, 等. 基于机器视觉的机器人自动酒醋出缸策略[J]. 食品与机械, 2024, 40(3): 110-119.
- TIAN H R, TIAN J Y, WANG S G, et al. Robot's automatic strategy for fermented grains scooping based on machine vision[J]. Food & Machinery, 2024, 40(3): 110-119.
- [19] 杨志锐, 郑宏, 郭中原, 等. 基于网中网卷积神经网络的红枣缺陷检测[J]. 食品与机械, 2020, 36(2): 140-145, 181.
- YANG Z R, ZHENG H, GUO Z Y, et al. Defect detection of jujube based on convolutional neural network of net in net[J]. Food & Machinery, 2020, 36(2): 140-145, 181.
- [20] YANG J, LIU S, MENG Y, et al. Self-powered tactile sensor for gesture recognition using deep learning algorithms [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2022, 14(22): 25 629-25 637.